

Aus dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie
Lehrstuhl für Toxikologie und Pharmakologie
der Universität Erlangen - Nürnberg
Vorstand: Professor Dr. C.-J. Estler

Vergleichende tierexperimentelle Untersuchungen zur subakuten Hepatotoxizität von Tetracyclinen

Bromsulfaleinretention sowie Transaminasen- und Sorbit-
dehydrogenase-Aktivität im Serum nach Verabreichung von
Tetracyclin, Rolitetraeyclin und Doxycyclin

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen - Nürnberg

vorgelegt von
Helena Fischer

aus Sibenik

Aus dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie
Lehrstuhl für Toxikologie und Pharmakologie
der Universität Erlangen - Nürnberg
Vorstand: Professor Dr. C.-J. Estler

**Vergleichende
tierexperimentelle Untersuchungen
zur subakuten Hepatotoxizität
von Tetracyclinen**

Bromsulfaleinretention sowie Transaminasen- und Sorbit-
dehydrogenase-Aktivität im Serum nach Verabreichung von
Tetracyclin, Rolitetracyclin und Doxycyclin

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen - Nürnberg

vorgelegt von
Helena Fischer
aus Sibenik

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. W. Kersten

Referent: Prof. Dr. C.-J. Estler

Tag der mündlichen Prüfung: 02.06.1980

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. EINLEITUNG	1
2. METHODIK	6
3. ERGEBNISSE	11
4. DISKUSSION	28
5. ZUSAMMENFASSUNG	33
6. LITERATURVERZEICHNIS	36
7. LEBENSLAUF	43



Digitized by the Internet Archive
in 2026

1. EINLEITUNG

Seit ihrer Einführung in die klinische Anwendung haben sich Tetracycline als äußerst wertvolle Breitbandantibiotika erwiesen. Die Hemmung der mikrobiellen Stoffwechselreaktionen schien zunächst über einen Wirkungsmechanismus zu erfolgen, der sich über extra- und intrazellulär gelegene Bakterien erstreckte und nicht zu einer Beeinträchtigung des Wirtsorganismus führte. Im Lauf der Zeit wurde jedoch immer wieder über Nebenwirkungen berichtet, insbesondere über Befunde, die auf eine Hepatotoxizität hindeuten, wie z.B. Leberverfettung und antianabole Wirkung. Die Leberverfettung, gekennzeichnet vor allem durch einen Anstieg der Triglyceride in der Leber (11), wurde beispielsweise bei Tetracyclinapplikation beobachtet (5, 40). Für Chlor-tetracyclin und Oxytetracyclin wurde ein analoger Effekt in vielen klinischen und tierexperimentellen Studien gezeigt (12, 26, 35, 41). Die antianabole Wirkung der Tetracycline in Leberzellen soll ein genaues Korrelat zu der antibakteriellen Wirkung sein. Die Tetracycline sollen demnach in die Translation der Proteinbiosynthese derart eingreifen, daß sie spezifisch die Anheftung der Aminoacyl-t-RNA an die ribosomale Akzeptorstelle hemmen und folglich die Peptidkettenverlängerung verhindern (17). Dieser antianabole Effekt der Tetracycline konnte vor allem durch eine Erhöhung der Harnstoffkonzentration im Serum (9, 12, 13, 14, 18, 20, 27, 31, 34, 38, 39)

und durch Stickstoffbilanz-Untersuchungen (36) erfaßt werden, wobei der Anstieg der Konzentration des Serumphosphors besonders bei Patienten mit vorgeschädigter Niere beobachtet wurde (1, 2, 10). Weiterhin wird über pathologische Befunde bei histologischen Leberuntersuchungen unter Verabfolgung von Chlortetracyclin und Oxytetracyclin berichtet (13, 14, 25, 35). Daneben gibt es weitere Hinweise auf tetracyclinbedingte Zellschädigungen bei Menschen (41), Versuchstieren (15) und Gewebekulturen (24). Aus der Tatsache, daß unter der Behandlung mit Chloramphenicol, welches ein ähnliches antibakterielles Wirkungsspektrum wie die Tetracyclingruppe aufweist (25), vergleichbare hepatotoxische Effekte nicht beobachtet wurden, wurde geschlossen, daß für die unerwünschten Wirkungen die Tetracycline aufgrund ihrer besonderen Struktur und chemischen Eigenschaften direkt verantwortlich seien und nicht etwa Effekte auf die bakterielle Flora des Darmes (13).

Zu den in der Diagnostik der tetracyclininduzierten Leberschädigungen verwendeten biochemischen Parametern gehörte auch die Bestimmung der Aktivitäten der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase im Serum (SGOT) und der Glutamat-Pyruvat-Transaminase im Serum (SGPT).

Im Tierversuch mit Ratten wurden bereits bei niedriger

Dosierung von Tetracyclin SGOT-Erhöhrungen und bei höherer Dosierung auch leichte SGPT-Erhöhrungen festgestellt (37). Art und Ausmaß der Leberschäden scheinen demzufolge dosisabhängig zu sein. Eine leichte Erhöhung der SGOT-Aktivität unter der Tetracyclinbehandlung beim Menschen wurde festgestellt, wenn Dosen bis zu 4 g/Tag i.v. verabreicht wurden (5), während andererseits bei einer Infusionsbehandlung mit Tetracyclin bei einer Therapiedauer von im Mittel 8 Tagen und einer Dosierung von 1 g/Tag in den ersten 3 Tagen und 0,5 g/Tag an den folgenden Tagen keinerlei Erhöhung der Transaminasen-Aktivitäten im Serum beobachtet wurde (40). Vom Rolitetetracyclin wurden nach Dölle (7) noch keine speziellen leberschädigenden Wirkungen bekannt.

Sowohl bei Tierexperimenten mit Oxytetracyclin an Hunden (30) [Dosierung: 25-220 mg/kg Körpergewicht intraperitoneal über 10 Tage], Tetracyclin [Dosierung: 250-300 mg/kg Körpergewicht intraperitoneal 7 Tage lang] und Chlortetracyclin [250-300 mg/kg Körpergewicht intraperitoneal 7 Tage lang] an Kaninchen (16) als auch bei klinischen Untersuchungen mit Tetracyclin [2 g/Tag peroral 6 Tage lang] (13) wurde berichtet, daß der Bromsulfaleintest innerhalb der Norm ausgefallen sei. Der eben erwähnte Bromsulfaleintest erfaßt im Gegensatz zu SGOT und SGPT schon sehr geringe Leberschädigungen, wurde aber zu der tierexperimentellen Diagnostik von tetracyclininduzierten Leber-

schäden bis jetzt nur selten herangezogen.

Eine Übersicht über die bisher vorliegende umfangreiche Literatur zur Hepatotoxizität der Tetracycline zeigt, daß zwar sehr viele Einzelbeobachtungen an Menschen und Versuchstieren vorliegen, die über das isolierte Auftreten bestimmter Funktionsstörungen nach Gabe einzelner Tetracyclinderivate Aufschluß geben. Es fehlen aber bisher systematische Untersuchungen, in denen den Dosiswirkungsbeziehungen für die verschiedenen durch Tetracycline bedingten Effekte nachgegangen worden wäre, etwa mit dem Ziel, Grenzdosen festzulegen, bei deren Überschreiten mit dem Auftreten der jeweiligen Funktionsstörung zu rechnen ist. Ebenso fehlen Untersuchungen, in denen die Hepatotoxizität der verschiedenen Tetracyclin-Derivate ausführlich verglichen wurde. Es sollte deshalb der Versuch unternommen werden, in einer breit angelegten Versuchsserie tierexperimentell die Wirkung wichtiger Tetracyclin-Derivate auf eine Reihe von biochemischen Parametern der Leberfunktion unter identischen experimentellen Bedingungen miteinander zu vergleichen. Die vorliegende Studie ist ein Teil dieser Versuchsserie. Sie hat den Vergleich dreier Tetracycline bei Verabreichung von vier verschiedenen, unter der Letalitätsgrenze liegenden Dosen zum Inhalt, und zwar des unsubstituierten Tetracyclin, des relativ neuen Doxycyclin und des Rolitetraacyclin, welches

zwar sehr häufig klinisch verabreicht wird, aber in seiner Toxizität wenig untersucht ist. Die Untersuchungen, die gleichzeitig und unter immer gleichartigen Versuchsbedingungen vorgenommen wurden, erstreckten sich einmal auf die Messung der Exkretionsfunktion der Leber, zu deren Erfassung der Bromsulfaleintest gewählt wurde.

Das Bromsulfalein, ein Dinatriumsalz der Phenoltetramethyleinsulfonsäure, verhält sich im Stoffwechsel ähnlich wie Bilirubin. Nach Injektion in die Blutbahn wird es relativ fest an Serumalbumin gebunden, transportiert und von den Leberzellen aufgenommen, in denen es mit Glutathion, Glycin oder Cystein konjugiert wird. Anschließend sezernieren die Leberzellen diese Konjugate in die Gallenkapillaren. Der Test ist in erster Linie ein Indikator für die exkretorische Funktion der Leber, kann aber auch als Hinweis auf andere Funktionsstörungen der Leber gelten, die sich etwa in einer verminderten Albuminproduktion oder verminderten Synthese der für die erforderlichen Konjugationen notwendigen Enzymproteine manifestieren. Jede Schädigung der exkretorischen Funktion vermindert die Ausscheidung des Bromsulfaleins durch die Leber. Zwischen dem Grad des Leberparenchymsausfalls und der Verzögerung der Farbstoffausscheidung besteht eine direkte Beziehung. Bei normaler Leberfunktion wird nur ca. 1 % des zugeführten Farbstoffs über die Niere ausgeschieden (33). Der Bromsulfaleintest ist ein sehr empfind-

licher Parameter zur Erfassung bereits von leichten Leberparenchym- und Funktionsschädigungen, da die Ausscheidungsfunktion schon bei geringer Alteration der Leberfunktion gestört gefunden wird. Zur Untersuchung der Hepatotoxizität der Tetracycline wurde er - wie schon erwähnt - merkwürdigerweise trotzdem wenig verwendet.

Die Untersuchung erstreckte sich weiterhin auf die Enzymaktivitäten der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT), der Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT) und der Sorbitdehydrogenase (SDH) im Blut. Sie wurden zur Erfassung schwerer Schädigungen von Leberparenchymzellen herangezogen. Als morphologisches Äquivalent eines vermehrten Auftretens dieser Enzyme im Serum wären Schäden an der Zellmembran bzw. das Vorkommen von Zellnekrosen innerhalb der Leber anzusehen, die zu einer Zunahme der ursprünglich intrazellulären Enzyme im Blut führen (28).

2. METHODIK

2.1. Allgemeines

Als Versuchstiere wurden in allen Versuchen männliche NMRI-Mäuse mit einem Gewicht zwischen 20 und 30 g verwendet. Die Tiere wurden bei einer konstanten Temperatur von 24°C in Kunststoffkäfigen auf Sägemehlstreu gehalten, wobei sich immer 10 Tiere in einem Käfig befanden. Die Fütterung erfolgte mit Standardpressfutter (Herilan[®]) und Wasser, beides ad libitum.

2.2. Versuchsvorbereitungen

Die drei Tetracycline, Tetracyclin, Doxycyclin und Rolitetracyclin, wurden jeweils 10 Tieren an fünf aufeinanderfolgenden Tagen zur gleichen Zeit (morgens zwischen 8 und 9 Uhr) in vier verschiedenen Dosierungen s.c. injiziert, wobei als Lösungsmittel physiologische Kochsalzlösung (0,01 ml/g Körpergewicht) diente. Die Dosierungen wurden auf das Körpergewicht der Einzeltiere bezogen, das vor der Injektion am 1. Injektionstage bestimmt und am 3. Injektionstag nachkontrolliert wurde. Die Dosierungen aller drei Tetracycline betrugen 10, 25, 50 und 100 µg/g Körpergewicht, wobei alle Dosierungen unter der Letalitätsgrenze lagen. Den unter den gleichen Bedingungen gehaltenen Kontrolltieren wurde die ihrem Körpergewicht entsprechende Menge an physiologischer Kochsalzlösung (0,01 ml/g Körpergewicht) subcutan verabreicht. Am 5. Tag einer jeden Versuchsreihe wurden ein Teil der behandelten Versuchstiere und die dazugehörigen Kontrolltiere 2 Stunden nach der letzten Injektion durch Genickbruch getötet und dekapitiert, wobei das für die Untersuchungen notwendige Blut entnommen werden konnte. Andere Versuchs- und Kontrolltiere wurden erst am 6. Tag einer Versuchsreihe, d.h. genau 24 Stunden nach der letzten Injektion, getötet. Der letztere Versuch wurde durchgeführt, um eine eventuelle Normalisierung der Laborwerte und damit eine Regeneration der Leberfunktion, d.h. die Reversibilität der durch Tetracycline induzierten Leberschäden, zu erkennen.

2.3. Versuche

2.3.1. Bestimmung der SGOT-Aktivität

Die Bestimmungen der SGOT-Aktivität wurden im frischen Serum nach der "optimierten Standardmethode der Deutschen Gesellschaft für klinische Chemie" durchgeführt (39).

Testprinzip:



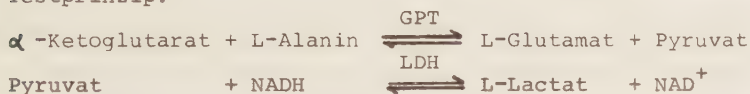
Die Reagenzien wurden von der Firma Boehringer Mannheim GmbH bezogen ("Test-Combination GOT-optimiert"). Einem Reaktionsgemisch, bestehend aus Phosphatpuffer (80 mM, pH 7,4), L-Aspartat (200 mM), NADH (0,18 mM), LDH ($\geq 1,2$ U/ml), MDH ($\geq 0,6$ U/ml) und α -Ketoglutarat (12 mM) wurde die Serumprobe (0,1 ml) zugesetzt. (Die angegebenen Konzentrationen und Aktivitäten sind die Endkonzentrationen und Endaktivitäten im Test). Mit einem Photometer wurde der Extinktionsabfall pro Minute, der durch die Umwandlung von NADH in NAD^+ entsteht und nach dargelegtem Testprinzip der Serumaktivität der GOT proportional ist, bei der Wellenlänge 365 nm gemessen.

2.3.2. Bestimmung der SGPT-Aktivität

Diese Bestimmung erfolgte weitgehend ähnlich der oben beschriebenen SGOT-Aktivitätsmessung. Wieder wurde frisches

Serum nach der "optimierten Standardmethode der Deutschen Gesellschaft für klinische Chemie" untersucht (39).

Testprinzip:

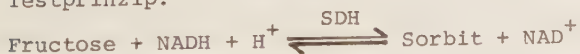


Hierzu wurden die Reagenzien der "Test-Combination GPT-optimiert" der Boehringer Mannheim GmbH verwendet. Wiederum wurde einem Reaktionsgemisch, bestehend aus Phosphatpuffer (80 mM, pH 7,4), L-Alanin (800 mM), NADH (0,18 mM), LDH ($\geq 1,2$ U/ml) und α -Ketoglutarat (18 mM) die Serumprobe (0,1 ml) zugesetzt (die angeführten Konzentrationen und Aktivitäten sind die Endkonzentrationen und Endaktivitäten im Test). Photometrisch wurde der Extinktionsabfall pro Minute, der durch die Umwandlung von NADH in NAD^+ entsteht und nach dargelegtem Testprinzip der Aktivität der SGPT proportional ist, bei der Wellenlänge 365 nm gemessen.

2.3.3. Bestimmung der SDH-Aktivität im Serum

Die Bestimmung der SDH-Aktivität erfolgte nach der Methode von Gerlach, U. und Laudahn, G. (19, 23).

Testprinzip:



Hierzu wurden die Reagenzien der "Test-Combination SDH" der Boehringer Mannheim GmbH verwendet. Einem Reaktionsgemisch aus Triäthanolaminpuffer (0,13 M, pH 7,4), NADH (0,24 mM) und frischem Serum (0,2 ml) wurde nach 45minütiger Inkubation im Wasserbad bei 25°C Fructose (0,11 M) zugegeben. (Die angeführten Konzentrationen sind Endkonzentrationen im Test). Anschließend wurde der Extinktionsabfall, der wiederum durch Umwandlung von NADH in NAD^+ entsteht und der Serumaktivität der SDH proportional ist, bei der Wellenlänge 365 nm gemessen.

2.3.4. Bromsulfalein-Test

Die Durchführung des Bromsulfalein-Tests stützte sich auf eine Arbeit von Kutob und Plaa (21), die die Modifikation der ursprünglichen Methode nach Casals und Olitzsky (4) zum Zweck einer frühen Erkennung von Leberschädigungen bei Mäusen zum Thema hatte. Von einer 1 %igen Bromsulfaleinlösung wurden 0,01 ml/g Körpergewicht, was einer Dosis von 0,1 mg Bromsulfalein/g Körpergewicht entsprach, Mäusen intravenös in eine Schwanzvene injiziert. Genau 15 Min. später wurden die Tiere dekapitiert. Hierbei erfolgte die Blutentnahme. Die Farbtintensität des im Serum enthaltenen Bromsulfaleins, das bei Zugabe von Natronlauge eine violette Färbung annahm, wurde bei 580 nm photometrisch erfaßt. Anhand der Eichkurve (nach H. Goetz, unveröffentlichte Information) und des Verdünnungsfaktors des Serums in den Küvettenansätzen

konnte die Konzentration des nach 15 Minuten noch im Serum reternierten, d.h. von der Leber noch nicht über die Galle ausgeschiedenen Bromsulfoaleins, bestimmt werden.

2.4. Statistische Auswertung

Die Versuchsergebnisse wurden hinsichtlich Signifikanz mit Hilfe des t-Tests nach Student statistisch überprüft, wobei der Unterschied zwischen zwei Mittelwerten (Proben- und Kontrollmittelwert) als signifikant betrachtet wurde, wenn die Irrtumswahrscheinlichkeit $P \leq 5\%$ ist. In den folgenden Abbildungen werden Standardabweichung des Mittelwerts ($s\bar{x}$) und Signifikanz mit angegeben.

3. ERGEBNISSE

Die Ergebnisse sind in den zu den jeweiligen Versuchen gehörenden Abbildungen zusammengestellt.

3.1. SGOT

Der SGOT-Gehalt des Blutes wurde 2 Stunden nach der letzten Gabe von Rolitetetracyclin in allen Dosierungen erhöht gefunden. Bei Verabreichung von Doxycyclin erhöhten nur Gaben von 50 und 100 $\mu\text{g/g}$ Körpergewicht den GOT-Gehalt des Blutes. Tetracyclin selbst führte in keiner Dosierung zu einer signifikanten Zunahme der SGOT-Aktivität.

Die SGOT-Anstiege waren reversibel. 24 Stunden nach der letzten Behandlung lagen in fast allen Fällen die GOT-Spiegel im Bereich der Kontrollwerte. Der erhöhte GOT-Gehalt der mit 10 µg/g Körpergewicht Rolitetracyclin behandelten Tiere dürfte trotz der statistischen Signifikanz wohl als zufallsbedingt gewertet werden (Abb. 1-3).

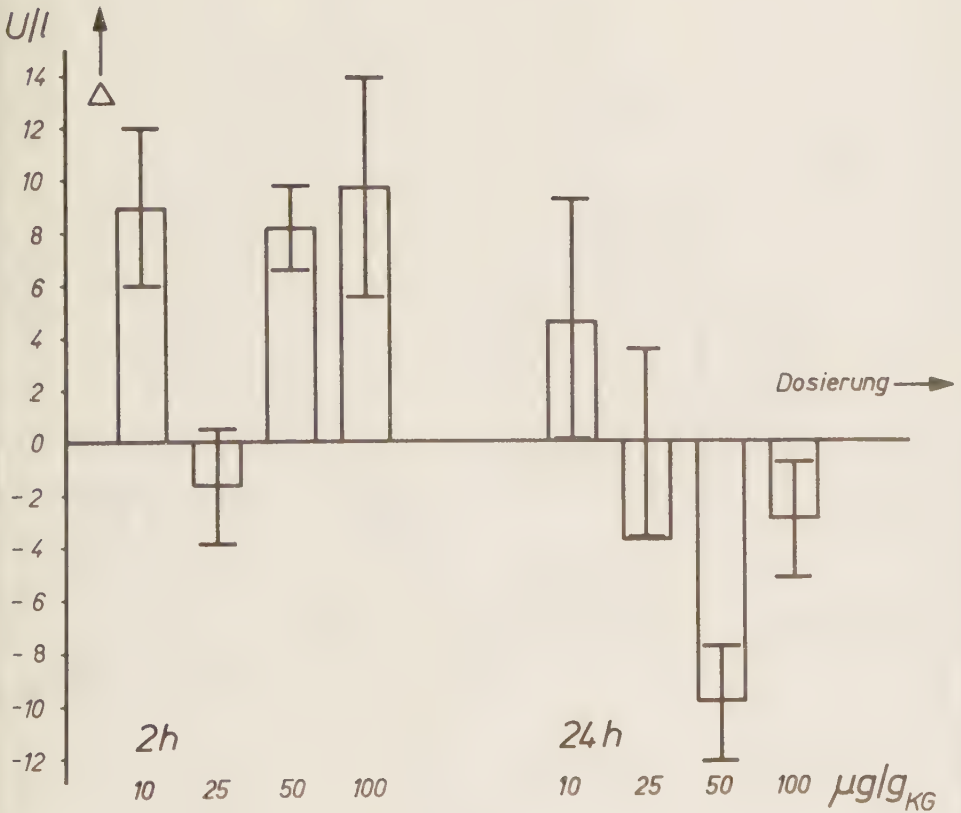


Abb. 1

Änderungen der GOT-Aktivität im Serum 2 und 24 Std.
nach Gabe von Tetracyclin ($\bar{x} \pm s_x$)

○ Wert vom zugehörigen Kontrollwert signifikant verschieden;
 $p \leq 0,05$

Kontrollwerte: 2 h : $\bar{x} = 46,77 \text{ U/l}$

24 h : $\bar{x} = 51,63 \text{ U/l}$

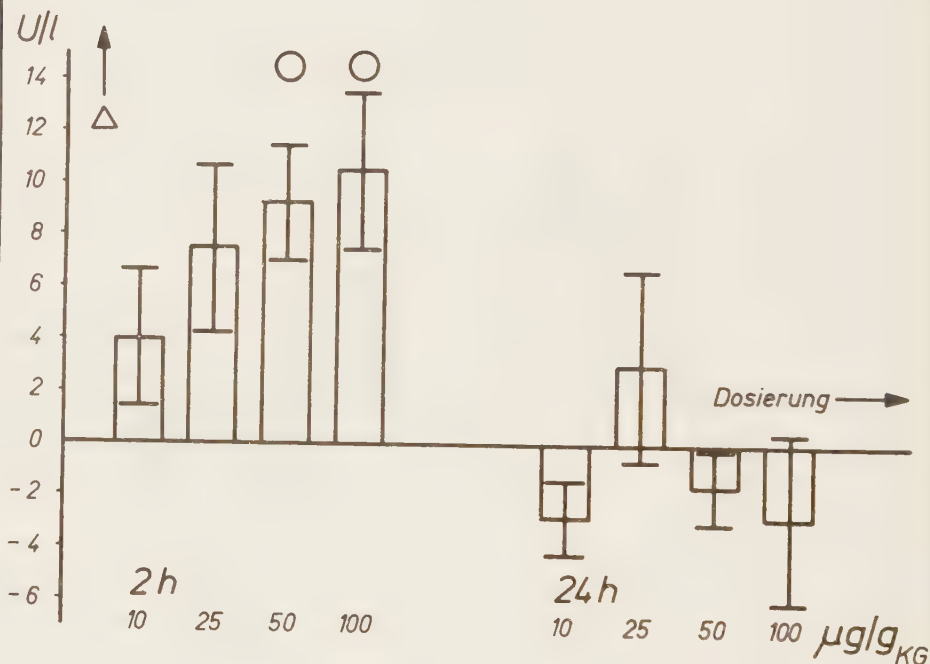


Abb. 2

Änderungen der GOT-Aktivität im Serum 2 und 24 Std. nach Gabe von Doxycyclin ($\bar{x} \pm s_x$)

○ Wert vom zugehörigen Kontrollwert signifikant verschieden; $P \leq 0,05$

Kontrollwerte: 2 h : $\bar{x} = 46,77$ U/l

24 h : $\bar{x} = 51,63$ U/l

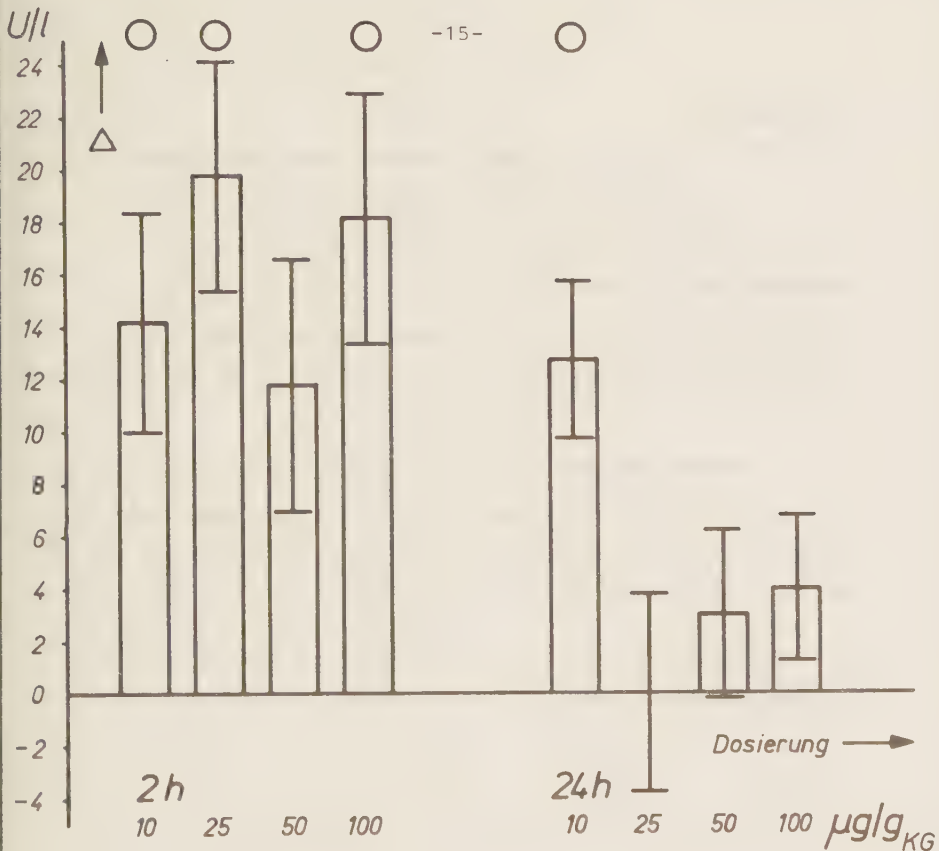


Abb. 3

Änderungen der GOT-Aktivität im Serum 2 und 24 Std.
nach Gabe von Rolitetracyclin ($\bar{x} \pm s\bar{x}$)

○ Wert vom zugehörigen Kontrollwert signifikant verschieden;
 $p \leq 0,05$

Kontrollwerte: 2 h : $\bar{x}$ = 46,77 U/l
24 h : $\bar{x}$ = 51,63 U/l

3.2. SGPT

Die SGPT-Aktivitäten wurden 2 Stunden nach der letzten Gabe der Tetracyclin-Derivate nur in einzelnen Fällen erhöht gefunden. Nach 10 und 100 µg/g Körpergewicht Tetracyclin und nach 10 und 25 µg/g Körpergewicht Rolitetracyclin ergaben sich Erhöhungen der SGPT-Aktivität. Klare Dosis-Wirkungs-Beziehungen waren nicht zu erkennen.

24 Stunden nach der letzten Gabe der Tetracycline lagen die Werte wieder im Kontrollbereich. Eine Ausnahme bildete nur Rolitetracyclin in der höchsten Dosierung von 100 µg/g Körpergewicht (Abb. 4-6).

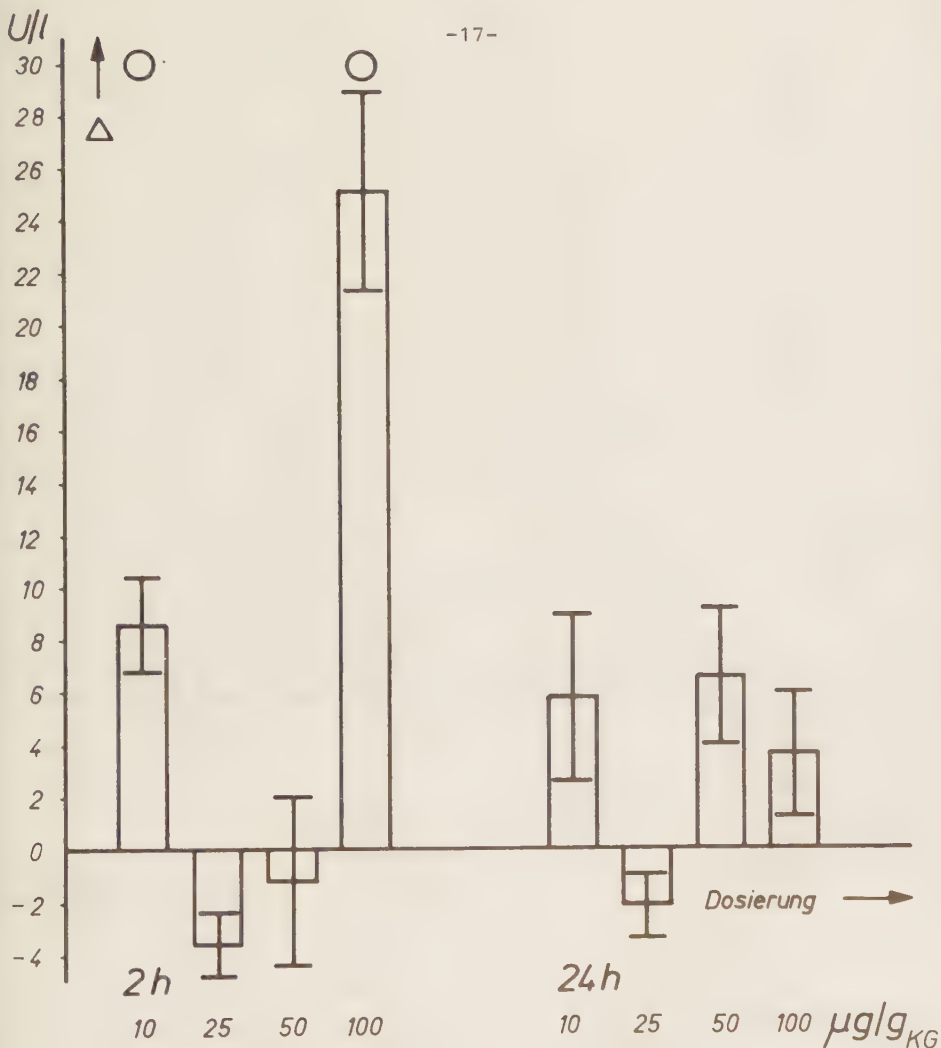


Abb. 4

Änderungen der GPT-Aktivität im Serum 2 und 24 Std.
nach Gabe von Tetracyclin ($\bar{x} \pm sx$)

○ Wert vom zugehörigen Kontrollwert signifikant verschieden;
 $p \leq 0,05$

Kontrollwerte: 2 h : $\bar{x} = 28,28$ U/l

24 h : $\bar{x} = 25,72$ U/l

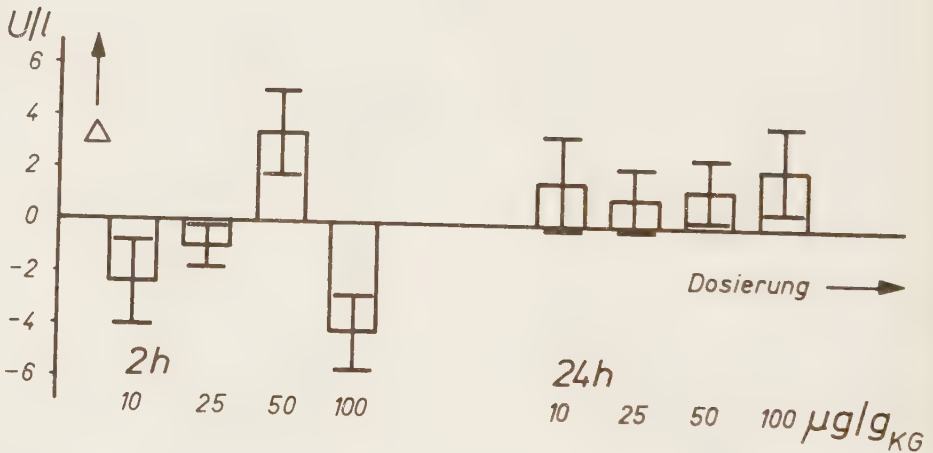


Abb. 5

Änderungen der GPT-Aktivität im Serum 2 und 24 Std.
nach Gabe von Doxycyclin ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

○ Wert vom zugehörigen Kontrollwert signifikant verschieden;
 $P \leq 0,05$

Kontrollwerte: 2 h : $\bar{x} = 28,28$ U/l
24 h : $\bar{x} = 25,72$ U/l

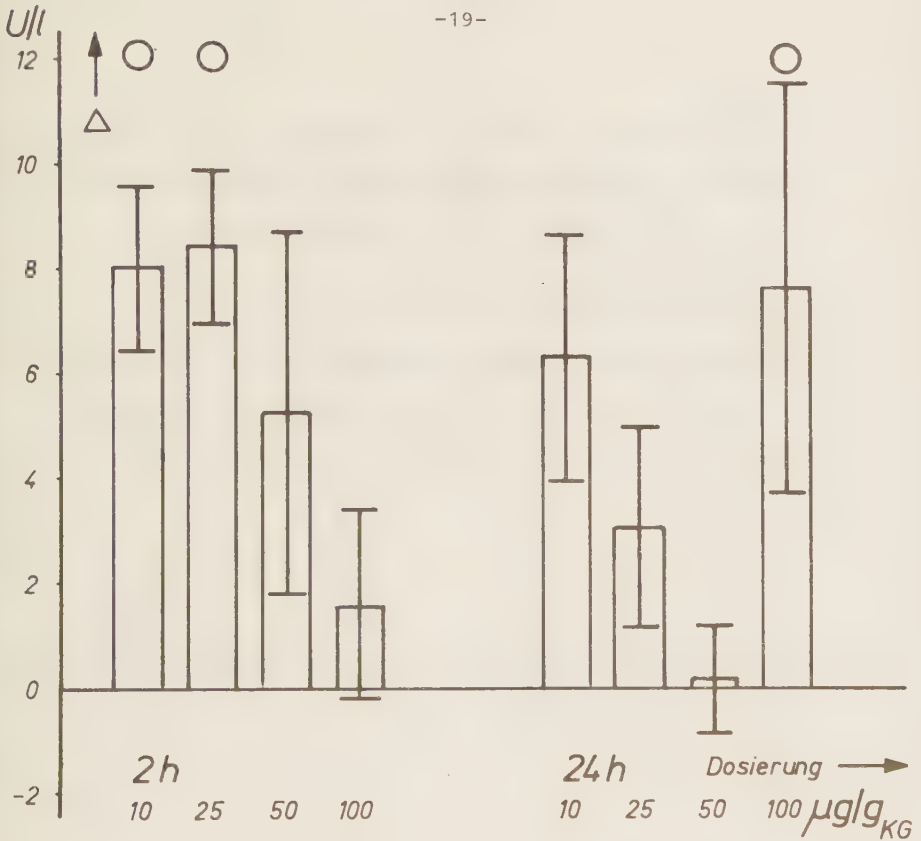


Abb. 6

Änderungen der GPT-Aktivität im Serum 2 und 24 Std.
nach Gabe von Rolitetracyclin ($\bar{x} \pm s\bar{x}$)

○ Wert vom zugehörigen Kontrollwert signifikant verschieden;
 $p \leq 0,05$

Kontrollwerte: 2 h : $\bar{x} = 28,28 \text{ U/l}$

24 h : $\bar{x} = 25,72 \text{ U/l}$

3.3. SDH

Die SDH-Aktivität wurde durch Tetracyclin unter den beschriebenen Versuchsbedingungen nicht signifikant verändert. Bei der Versuchsreihe mit Rolitetetracyclin ergab sich ebenfalls keine signifikante Erhöhung der SDH-Aktivität im Serum. Eine Ausnahme bildete Doxycyclin in der Dosierung von 25 µg/g Körpergewicht im 24 Std.-Versuch. Hier ergab sich eine signifikante Erhöhung der SDH-Aktivität im Serum, die als zufallsbedingt anzusehen war (Abb. 7-9).

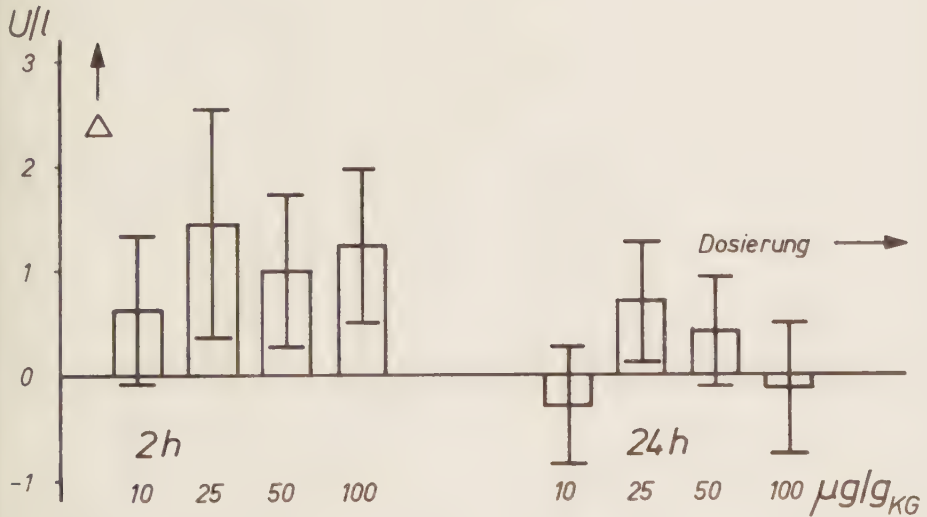


Abb. 7

Änderungen der SDH-Aktivität im Serum 2 und 24 Std.
nach Gabe von Tetracyclin ($\bar{x} \pm sx$)

○ Wert vom zugehörigen Kontrollwert signifikant verschieden;
 $p \leq 0,05$

Kontrollwerte: 2 h : $\bar{x} = 9,62$ U/l
24 h : $\bar{x} = 9,85$ U/l

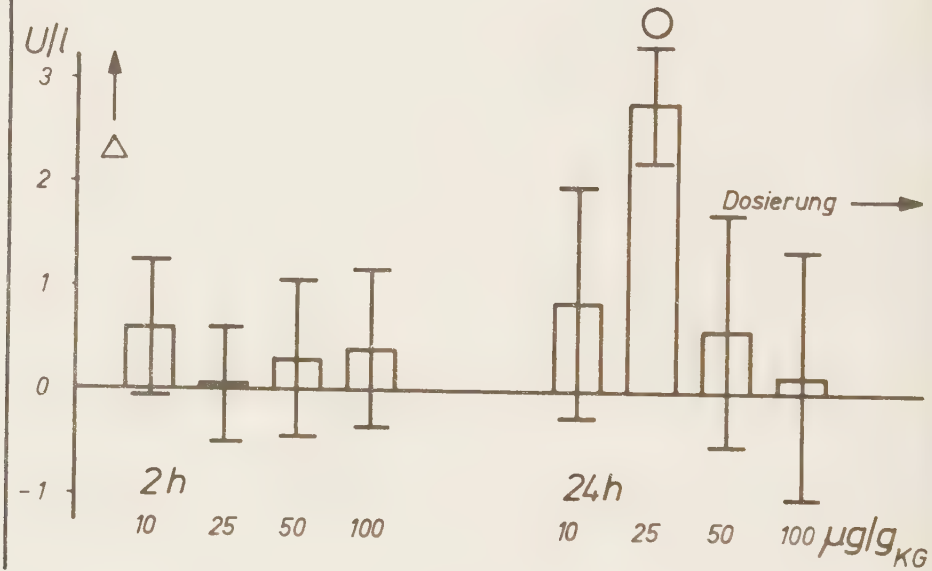


Abb. 8

Änderungen der SDH-Aktivität im Serum 2 und 24 Std. nach Gabe von Doxycyclin ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

○ Wert vom zugehörigen Kontrollwert signifikant verschieden; $P \leq 0,05$

Kontrollwerte: 2 h : $\bar{x} = 9,62$ U/l
 24 h : $\bar{x} = 9,85$ U/l

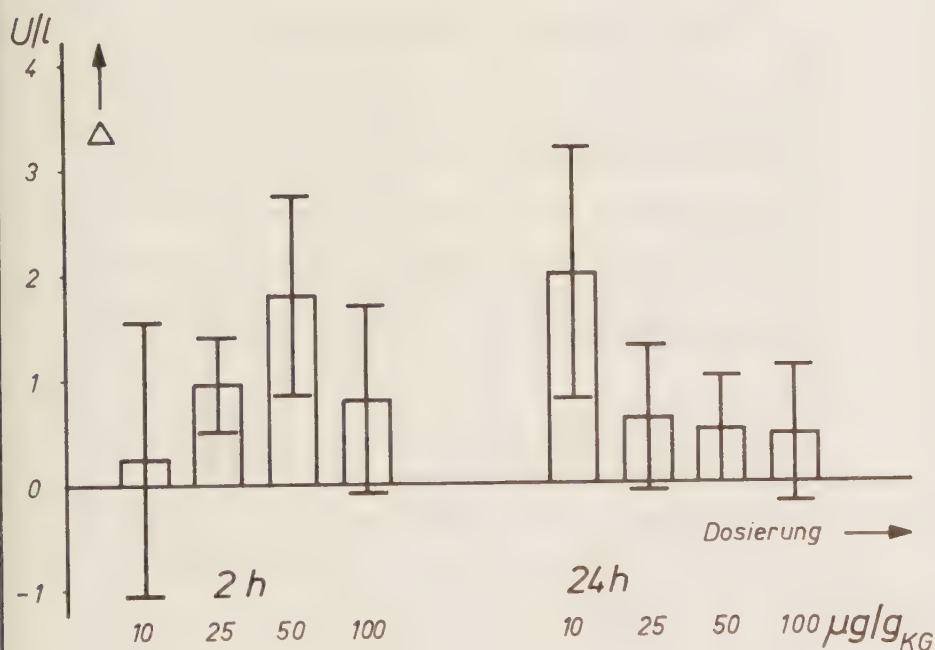


Abb. 9

Änderungen der SDH-Aktivität im Serum 2 und 24 Std.
nach Gabe von Rolitetracyclin ($\bar{x} \pm s_x$)

○ Wert vom zugehörigen Kontrollwert signifikant verschieden;
 $p \leq 0,05$

Kontrollwerte: 2 h : $\bar{x} = 9,62$ U/l
24 h : $\bar{x} = 9,85$ U/l

3.4. Bromsulfaleintest

Die Bromsulfaleinelimination wurde durch die Tetracycline verzögert. Am deutlichsten war dies in den Versuchen mit Rolitetetracyclin erkennbar: 2 Stunden nach der letzten Injektion von Rolitetetracyclin in Dosen von 25, 50 und 100 µg/g Körpergewicht, war der Bromsulfaleingehalt des Blutes stark erhöht. Bei Tetracyclin war die Erhöhung geringer und nur bei einer Dosierung von 25 µg/g Körpergewicht statistisch signifikant, bei 50 und 100 µg/g Körpergewicht allerdings ganz knapp an der Signifikanzgrenze. Unter Doxycyclingabe trat zu diesem Zeitpunkt keine Bromsulfaleinretention auf.

Nach 24 Stunden fand sich bei den mit Rolitetetracyclin behandelten Tieren noch eine Bromsulfalein-Retention. Sie war zwar nur noch bei der höchsten Dosis von 100 µg/g Körpergewicht signifikant, bei 50 und 100 µg/g Körpergewicht lagen aber die Werte ebenfalls ganz nahe an der Signifikanzgrenze. In den Versuchen mit Tetracyclin war nach 24 Stunden nur in der höchsten Dosierung noch eine signifikante Veränderung des Bromsulfalein-Gehalts des Blutes festzustellen. Bei den mit Doxycyclin behandelten Tieren fand sich 24 Stunden nach der letzten Applikation nur eine sehr geringe Retention, die in einem Fall (Dosierung: 50 µg/g Körpergewicht) die Signifikanzgrenze überschritt (Abb. 10-12).

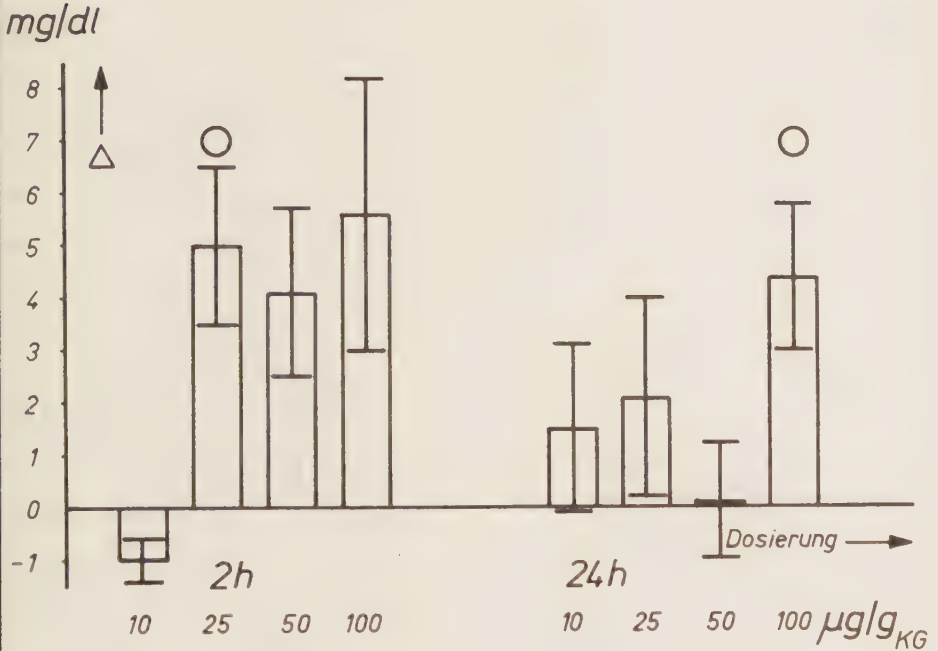


Abb. 10

Änderungen der Bromsulfaleinretention 2 und 24 Std.
nach Gabe von Tetracyclin ($\bar{x} \pm sx$)

○ Wert vom zugehörigen Kontrollwert signifikant verschieden;
 $p \leq 0,05$

Kontrollwerte: 2 h : $\bar{x} = 9,72 \text{ mg/dl}$

24 h : $\bar{x} = 9,25 \text{ mg/dl}$

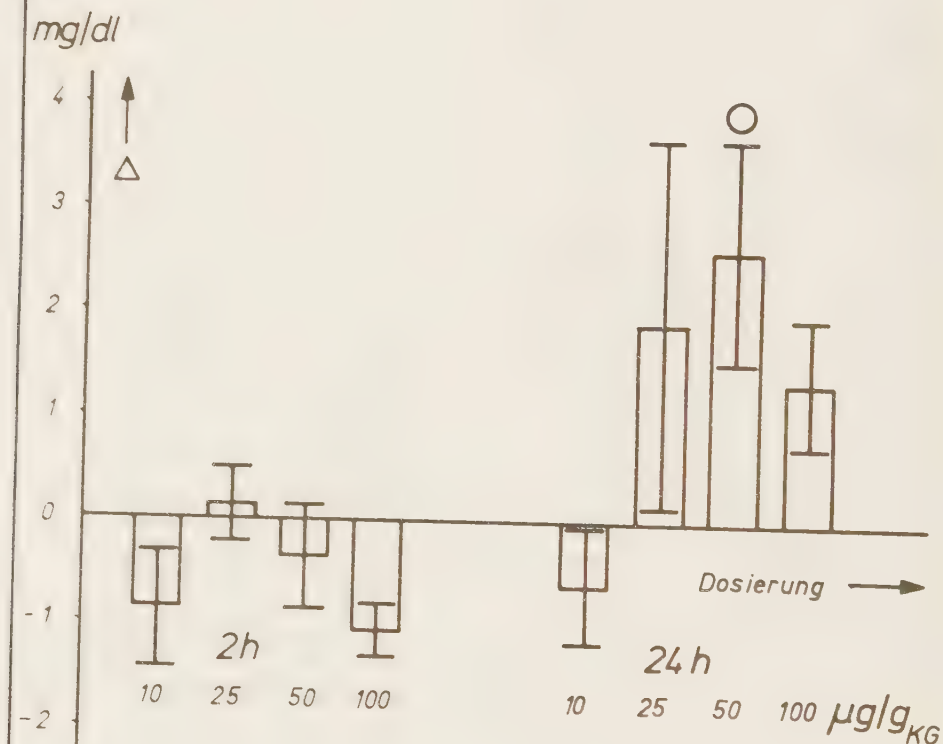


Abb. 11

Änderungen der Bromsulfaleinretention 2 und 24 Std.
nach Gabe von Doxycyclin ($\bar{x} \pm s\bar{x}$)

○ Wert vom zugehörigen Kontrollwert signifikant verschieden;
 $p \leq 0,05$

Kontrollwerte: 2 h : $\bar{x}$ = 9,72 mg/dl
24 h : $\bar{x}$ = 9,25 mg/dl

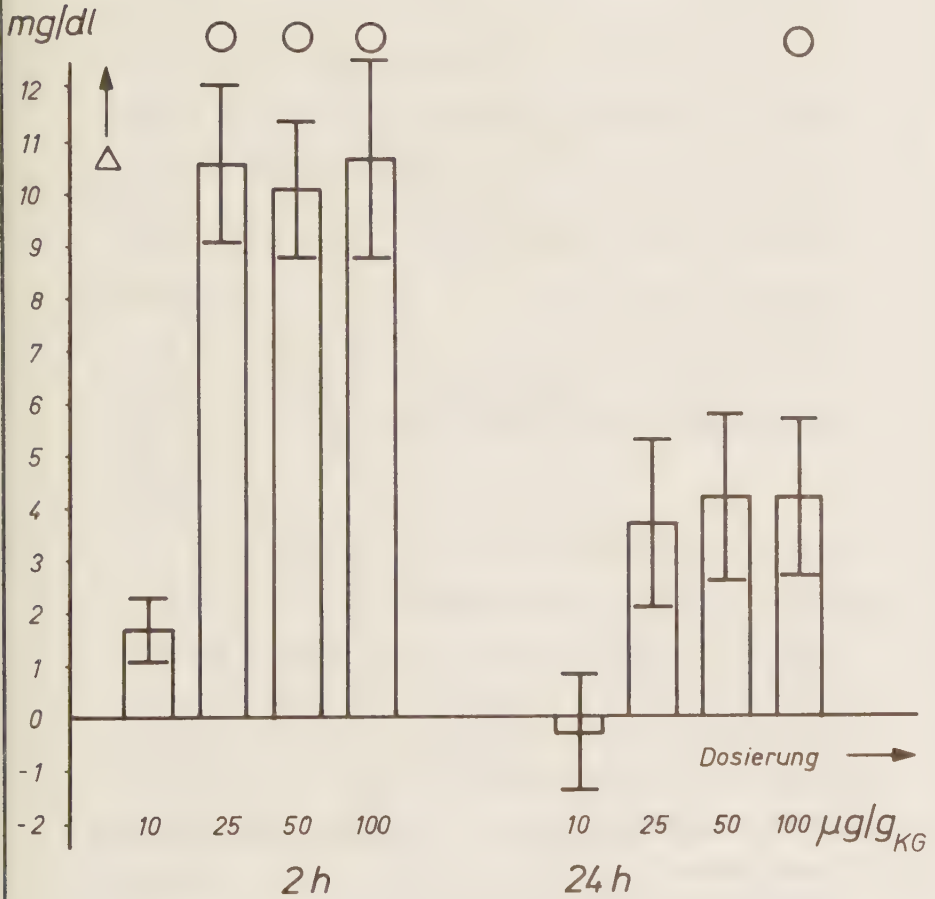


Abb. 12

Änderungen der Bromsulfaleinretention 2 und 24 Std.
nach Gabe von Rolitetetracyclin ($\bar{x} \pm \bar{s}_x$)

○ Wert vom zugehörigen Kontrollwert signifikant verschieden;
 $p \leq 0,05$

Kontrollwerte: 2 h : $\bar{x} = 9,72 \text{ mg/dl}$

24 h : $\bar{x} = 9,25 \text{ mg/dl}$

4. DISKUSSION

Die Auswertung des Bromsulfaleintestes gibt bei Tetracyclin Hinweise auf eine Leberfunktionsstörung nach mittlerer und höherer Dosierung, die bei höherer Dosierung selbst nach 24 Stunden noch nicht aufgehoben zu sein scheint. Bei Rolitetetracyclin fand sich nach 2 Stunden eine gegenüber Tetracyclin noch deutlicher ausgeprägte Störung des Bromsulfaleintestes, die auch 24 Std. nach der letzten Injektion noch erkennbar war. Bei Doxycyclin ergab der Bromsulfaleintest dagegen keinerlei Anhaltspunkte für eine stärkere Leberfunktionsstörung.

Wie schon in der Einleitung erwähnt, müssen signifikant erhöhte Bromsulfaleinkonzentrationen im Serum vor allem als Störung der exkretorischen Leberfunktion gewertet werden. Ihre Ursache läßt sich aufgrund der vorliegenden Daten nicht sicher eruieren. Sie könnte u.a. in einer cholestatischen Hepatose oder einer verminderten Produktion von Proteinen gesucht werden, die für die Bindung, Metabolisierung und die biliäre Ausscheidung des Bromsulfaleins notwendig sind. Auf diese Weise könnte die Störung der Bromsulfaleinelimination letztlich im Zusammenhang mit der antianabolen Wirkung der Tetracycline auf die Proteinsynthese stehen. Diese antianabole Wirkung, auf die bereits in der Einleitung kurz eingegangen wurde, ist in vielen Arbeiten beschrieben worden (1, 2, 9, 10, 12, 13,

14, 18, 20, 27, 31, 34, 38, 39).

Die Bromsulphaleinretention nach Tetracyclin und Rolitetracyclin könnte aber auch die unspezifische Folge einer globalen Störung der Leberzellfunktion sein, denn zwischen dem Ausfall der Leberparenchymzellen und der Verzögerung der Farbstoffausscheidung wird eine direkte Korrelation bestehen.

Hinweise darauf, daß eine solche globale Störung vorliegen könnte, geben die Bestimmungen der Transaminasen (GOT und GPT) und der SDH im Blut.

In der Tat fanden sich 2 Stunden nach der Behandlung mit den drei Tetracyclin-Derivaten Anstiege der Transaminasenaktivität im Blut, wobei von den Transaminasen die SGOT deutlicher reagierte als die SGPT. Dies bestätigt die bereits früher aufgestellte Behauptung, die SGOT sei ein empfindlicherer Parameter für die Hepatotoxizität der Tetracycline als die SGPT (37). Die SDH-Konzentration im Serum gilt ebenfalls als ein Anzeichen für Leberparenchymzellnekrosen wie die SGOT- und SGPT-Konzentration. Sie zeigte jedoch in keinem Fall signifikante Veränderungen, was dafür spricht, daß die durch Tetracycline gesetzten Schädigungen insgesamt kein sehr hohes Ausmaß erreichen. Unter den drei getesteten Tetracyclin-Derivaten erwies sich Rolitetracyclin

als dasjenige, das die deutlichsten Veränderungen im Transaminasegehalt des Blutes hervorrief. Tetracyclin und Doxycyclin bewirkten vergleichsweise schwächere Effekte. Die frühere Feststellung (40), für Rolitetetracyclin seien keine speziellen hepatotoxischen Effekte bekannt, kann damit nicht aufrecht erhalten werden. Das morphologische Äquivalent eines vermehrten Auftretens dieser drei Enzyme im Serum ist, wie schon erwähnt, der Verlust der Integrität von Leberparenchymzellen. Im leichteren Fall kann das lediglich eine Störung der Zellmembran sein, die zum Austritt zytoplasmatischer Enzyme führt, im schwereren Fall aber auch ein völliger Zelluntergang (28). Für die Entstehung solcher Zellnekrosen durch Tetracycline lassen sich verschiedene Mechanismen diskutieren, die auch für die antibiotische Wirksamkeit der Verbindungen von Bedeutung sein können. Sehr häufig wird eine Hemmung der Zellatmung und der oxidativen Phosphorylierung durch Tetracycline genannt (3, 29). Dies wird im einzelnen für Chlortetracyclin beschrieben, vor allem im Zusammenhang mit einer Inhibition des Citratzyklus (Abnahme der Aktivität der Succinatdehydrogenase), wofür die Bildung von Komplexen zwischen Chlortetracyclin und den für enzymatische Reaktionen notwendigen Metallionen (u.a. Magnesium) verantwortlich gemacht wird (29, 42). Derselbe Effekt wird auch Oxytetracyclin und Tetracyclin zugeschrieben (3, 39). Andererseits wird von Shils (39) die Bedeutung einer Metallchelatformung von Tetracyclinen (Oxytetracyclin, Chlortetracyclin und Tetra-

cyclin) angezweifelt. Für eine Abnahme der Aktivität der Enzyme der Atmungskette und der oxidativen Phosphorylierung können aber auch andere Mechanismen in Frage kommen. Es wird z.B. berichtet, Oxytetracyclin behindere reversibel die Bildung der gesamten mitochondrialen Proteinsynthese, insbesondere die Bildung der Cytochrom-c-oxydase (Cytochrom aa_3) (6). Zur Untermauerung dieser Theorie kann die Tatsache herangezogen werden, daß Tetracycline, und zwar Tetracyclin selbst (5, 8), Oxytetracyclin und Chlortetracyclin (8) sich, wie fluoreszenzmikroskopisch nachgewiesen wurde, besonders in den Mitochondrien anreichern, so daß vor allem Wirkungen auf die Mitochondrien, in denen der oxidative Stoffwechsel lokalisiert ist, wahrscheinlich werden.

In diesem Zusammenhang ist zu erwähnen, daß in der Leber selbst eine Aktivitätsabnahme der GOT, GPT, Glutamatdehydrogenase und Arginase gefunden wurde (11). Neben dem schon erwähnten Austritt von Enzymen aus den Leberzellen ins Blut kann hierfür auch wiederum der antianabole Effekt der Tetracycline, d.h. eine Verminderung der Enzymmenge oder auch die Bildung von Metallchelaten von Tetracyclinen mit polyvalenten Kationen, d.h. ein Mangel an essentiellen Cofaktoren der Enzyme verantwortlich gemacht werden (11). Bei der weiterhin beschriebenen Abnahme von mikrosomalen Enzymaktivitäten (u.a. der Aktivität des Cytochrom-P-450) wurde allerdings eine Metallchelatbildung mit Magnesium als

Ursache ausgeschlossen (32).

Abschließend ergeben die vorliegenden Untersuchungen, daß unter den drei überprüften Tetracyclinen Rolitetra-
cyclin den stärksten, Doxycyclin den schwächsten, aber
dennoch keineswegs zu übersehenden negativen Effekt auf
die Leberfunktion zu besitzen scheinen. Tetracyclin nimmt
dazwischen eine Mittelstellung ein. Die kritische Grenze
für das Auftreten von Leberfunktionsstörungen liegt bei
allen drei untersuchten Derivaten etwa im gleichen Dosis-
bereich von 25 µg/g Körpergewicht, vor allem, wenn man
die Ergebnisse des sehr empfindlichen Bromsulfaleintestes
betrachtet.

Eine ähnliche Rangfolge in der Hepatotoxizität der
drei untersuchten Tetracycline fand Lang (22) in völlig
analogen Versuchen für die Störung des Bilirubinstoff-
wechsels, wo auch für Rolitetracyclin und Tetracyclin die
kritische Grenze bei 25 µg/g Körpergewicht lag. Bei den
Untersuchungen der Triglycerid-Konzentration in der Leber
findet sich in der Studie von Lang (22) für Tetracyclin
ebenfalls die kritische Toxizitätsgrenze bei 25 µg/g Kör-
pergewicht, für Doxycyclin allerdings erst bei 50 µg/g
Körpergewicht. Für Rolitetracyclin wurde in diesen Ver-
suchen keine Leberverfettung festgestellt, so daß sich
für die Untersuchung der Triglycerid-Konzentration in der

Leber eine andere Rangfolge in der Hepatotoxizität der drei Tetracycline ergibt (22).

5. ZUSAMMENFASSUNG

In früheren Untersuchungen über die Hepatotoxizität von Tetracyclinen wurde meist nur ein Derivat unter ganz bestimmten Gesichtspunkten untersucht. Ein Vergleich der hepatotoxischen Wirkung der verschiedenen Tetracycline wird dadurch erschwert. Deshalb sollte in der vorliegenden tierexperimentellen Arbeit an Mäusen der Versuch unternommen werden, drei verschiedene Tetracycline, nämlich das schon sehr früh klinisch eingeführte Tetracyclin, das relativ neue Doxycyclin und das in seiner Toxizität noch sehr wenig untersuchte Rolitetetracyclin hinsichtlich ihrer Hepatotoxizität unter völlig analogen Versuchsbedingungen zu vergleichen. Um eventuell vorhandene Dosis-Wirkungs-Beziehungen und kritische Dosierungsgrenzen hinsichtlich der Toxizität zu finden, wurde die Wirkung verschiedener Dosierungen der genannten Tetracycline untersucht, die jeweils 5 Tage lang einmal täglich s.c. appliziert wurden. Als Parameter für Leberschädigungen wurden die Bromsulfaleinretention im Blut und die Enzymaktivitäten der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT), der Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT) und die Sorbitdehydrogenase (SDH) im Serum gemessen.

Bei der Bestimmung der SGOT-Aktivität zeigte sich ein starker Anstieg bei Verabreichung von Rolitetetracyclin in sämtlichen Dosierungen und von Doxycyclin ab einer kritischen Dosierung von 50 µg/g Körpergewicht, wobei diese Aktivitätszunahmen schnell reversibel waren, die Leber sich also schnell wieder von der Schädigung erholte. Bei Tetracyclingabe zeigte sich keine Zunahme der SGOT.

Bei der Bestimmung der SGPT-Aktivität waren die Resultate weniger eindeutig: eine Aktivitätszunahme fand sich bei Tetracyclin und Rolitetetracyclin, doch war sie nicht dosisabhängig. Nach Doxycyclin war die SGPT-Aktivität nicht erhöht. In fast allen Fällen waren die Aktivitätsveränderungen innerhalb von 24 Std. reversibel.

Die Bestimmung der SDH-Aktivität im Serum erbrachte bei keinem der drei untersuchten Tetracycline Hinweise auf eine hepatotoxische Wirkung.

Die Durchführung des Bromsulfaleintestes, der bereits auf leichte Leberfunktionsstörungen reagiert, zeigte, daß von den drei Tetracyclinen Rolitetetracyclin ab einer kritischen Dosierungsgrenze von 25 µg/g Körpergewicht die Leberfunktion am stärksten störte. Bei Tetracyclin ergab sich eine qualitativ gleiche Tendenz, doch war sie deutlich schwächer. Die durch den Bromsulfaleintest erfaßten Leber-

funktionsstörungen erwiesen sich vor allem nach Rolitetracyclinapplikation als nur langsam reversibel. Entsprechende Leberfunktionsstörungen konnten für Doxycyclin nicht gefunden werden.

Insgesamt gesehen erweist sich aufgrund der vorliegenden Versuche unter den drei Tetracyclin-Derivaten Rolitetracyclin als das Präparat mit der stärksten, Doxycyclin als das mit der geringsten, aber doch keineswegs zu übersehenden negativen Wirkung auf die Leber. Dem Tetracyclin muß eine mittlere, jedoch insgesamt recht hohe Hepatotoxizität zugesprochen werden.

6. LITERATURVERZEICHNIS

- (1) Bateman, J.C., Klopp, C.T., Samson, R. (1954).
Effect of Nephrectomy on Azotemia Associated with
Parenteral Antibiotic Administration.
Antibiot. Ann. 1953-54: 531-534
- (2) Bateman, J.C., Barberio, J.R., Brice, P., Klopp, C.J.,
Pierpont, H. (1952).
Fatal Complications of Intensive Antibiotic Therapy
in Patients with Neoplastic Disease.
Arch. Int. Med. 90: 763-773
- (3) Brody, T.M., Hurwitz, R., Bain, J.A. (1954).
Magnesium and the Effect of the Tetracycline Anti-
biotics on Oxidative Processes in Mitochondria.
Antibiot. Chemotherap. 4: 864-870
- (4) Casals, J., Olitsky, K. (1946).
Tests for Hepatic Dysfunction for Mice.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 63: 383-390
- (5) Davis, J.S., Kaufman, R.H. (1965).
Tetracycline Toxicity.
Amer. J. Obstetr. 95: 523-529
- (6) De Vries, H., Kroon, A.M. (1970).
On the Effect of Chloramphenicol and Oxytetracycline
on the Biogenesis of Mammalian Mitochondria.
Biochem. Biophys. Acta 204: 531-541
- (7) Dölle, W. (1967).
Kann Reverin leberschädigend wirken?
Münch. Med. Wschr. 109: 2099

- (8) Du Buy, H.G., Showacre, J.L. (1961)
Selective Localization of Tetracycline in Mitochondria
of Living Cells.
Science, Vol. 133: 196-197

- (9) Eastwood, J.B., Bailey, R.R., Curtis, J.R., Grower, P.E.,
De Wardener, H.E. (1970).
Tetracycline in Renal Failure.
Lancet 2: 39

- (10) Edwards, O.M., Huskisson, E.C., Taylor, R.T. (1970).
Azotaemia Aggravated by Tetracycline.
Brit.Med.J. I: 26-27

- (11) Einheber, A., Rosen, H., Wren, R.E., Beaudry, N.N. (1966).
The Role of Microbial Flora in the Hepatotoxicity
of Chlortetracycline in vivo: A Study with Germfree
Mice.
Biochem.Pharmacol. 15: 1093-1104

- (12) Faloon, W.W., Noll, J.W., Collins, K. (1954).
Metabolic and Histologic Studies in Patients with and
without Liver Diseases Receiving Chloramphenicol and
Oxytetracycline.
J.Lab.Clin.Med. 44: 75-90

- (13) Faloon, W.W., Downs, J.J., Duggan, K. (1957).
Nitrogen and Electrolyte Metabolism and Hepatic Function
and Histology in Patients Receiving Tetracycline.
Amer.J.Med.Sci. 233: 563-572

- (14) Faloon, W.W., Noll, J.W., Prior, J.T. (1953).
Nitrogen Metabolism and Liver Histology during
Aureomycin Administration in Patients with Hepatic
Disease.
J.Lab.Clin.Med. 41: 596-607

- (15) Farhat, S.M., Schelhart, D.L., Musselman, M.M. (1957-58).
Clinical Observation on Toxicity of Tetracyclines
in Man with Experimental Studies in Animals.
Antibiot. Ann. 4: 426-430
- (16) Farhat, S.M., Schelhart, D.L., Musselman, M.M. (1958).
Clinical Toxicity of Antibiotics Correlated with
Animal Studies.
Arch. Surg. 76: 762-765
- (17) Forth, W., Henschler, D., Rummel, W. (Hrsg.) (1977).
Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie.
Bibliograph. Inst. Mannheim/Wien/Zürich, B.J.-
Wissenschaftsverlag, 2. Auflage: 500-505
- (18) George, C.R.P., Evans, R.A. (1971).
Tetracycline Toxicity in Renal Failure.
Med. J. Aust. 1: 1271-1273
- (19) Gerlach, U. (1957).
Pathologischer Übertritt von Sorbitdehydrogenase ins
Blut bei Lebererkrankungen.
Klin. Wschr. 35: 1144-1145
- Gerlach, U. (1959).
Zur klinischen Bedeutung der Aktivitätsmessung von
Sorbitdehydrogenase im menschlichen Blutserum.
Klin. Wschr. 37: 93-98
- (20) Korneila, J. (1971).
Antianabolic Effect of Tetracyclines.
Lancet 1: 974-975
- (21) Kutob, S.D., Plaa, G.L. (1962).
Assessment of Liver Function in Mice with Bromsulphalein
J. App. Physiol., Vol. 17, 1: 123-125

- (22) Lang, F.J. (1978).
Vergleichende tierexperimentelle Untersuchungen zur subakuten Hepatotoxizität von Tetracyclinen.
Der Einfluß von Tetracyclin, Rolitetracyclin und Doxycyclin auf den Triglyceridgehalt von Leber und Serum und auf die Harnstoff- und Bilirubin-Konzentration im Serum.
Inaug.Diss. Erlangen
- (23) Laudahn, G., Feissli, S., Forster, G., Schmidt, E., Schmidt, F.W. (1966).
Normal-Werte und Alterung von Hauptketten-Enzymen im Serum.
Klin.Wschr. 44: 390-396
- (24) Lépine, P., Barski, G., Maurin, J. (1950).
Action of Chlormycetin and of Aureomycin on Normal Tissue Cultures.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 73: 252-255
- (25) Lepper, M.H., Wolfe, C.K., Zimmerman, H.J., Caldwell, E.R., Spies, H.W., Dowling, H.F. (1951).
Effect of Large Doses of Aureomycin on Human Liver.
Arch.Int.Med. 88: 271-283
- (26) Lepper, M.H., Zimmerman, H.J., Carroll, G., Caldwell, E.R., Spies, H.W., Dowling, H.F., Wolfe, C.K. (1951).
Effect of Large Doses of Aureomycin, Terramycin and Chloramphenicol on Livers of Mice and Dogs.
Arch.Int.Med. 88: 284-296
- (27) Lew, H.T., French, S.W. (1966).
Tetracycline Nephrotoxicity and Nonoliguric Acute Renal Failure.
Arch.Int.Med. 118: 123-128

- (28) Liehr, H., Kasper, H. (Hrsg.) (1975).
Leberkrankheiten.
Aesopus Verlag GmbH Milano/München/Lugano, p. 39
- (29) Van Meter, J.C., Spector, A., Oleson, J.J.,
Williams, J.H. (1952).
In vitro Action of Aureomycin on Oxidative
Phosphorylation in Animal Tissues.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 81: 215-217
- (30) P'an, S.Y., Scaduto, L., Cullen, M. (1950).
Pharmacology of Terramycin in Experimental Animals.
Ann.N.Y. Acad.Sci. 53: 238-244
- (31) Perkash, I., Kataria, P.N., Khanna, O.P. (1969).
Possible Tetracycline Toxicity in Azotemia.
J.Urol. 102 : 102-107
- (32) Peters, M.A., Fouts, J.R. (1969).
The Inhibitory Effect of Aureomycin (Chlortetracycline)
Pretreatment on Some Rat Liver Microsomal Enzyme
Activities.
Biochem.Pharmacol., Vol. 18: 1511-1517
- (33) Rick, W. (1974).
Klinische Chemie und Mikroskopie.
Springer Verlag Berlin/Heidelberg/New York, 1974,
3. Auflage, p. 173-174
- (34) Roth, H., Becker, K.L., Shalhoub, R.J., Katz, S. (1967).
Nephrotoxicity of Demethylchlortetracycline
Hydrochloride.
Arch.Int.Med. 120: 433-435

- (35) Sborov, V.M., Sutherland, D.A. (1951).
Fatty Liver Following Aureomycin and Terramycin
Therapy in Chronic Hepatic Disease.
Gastroenterology 18: 598-605
- (36) Scheuble, W., Kluthe, R. (1975).
Vergleichende Stickstoff-Bilanz-Untersuchungen
zur antianabolen Wirkung von Tetracyclinen.
Nieren- und Hochdruckkrankheiten 4: 95-100
- (37) Shauer, B.A., Lukacs, L., Zimmerman, H.J. (1974).
Biochemical Indices of Tetracycline Hepatic Injury
in Rats.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 147: 868-872
- (38) Shils, M.E. (1963).
Renal Disease and the Metabolic Effects of
Tetracycline.
Ann.Int.Med. 58: 389-408
- (39) Shils, M.E. (1962).
Some Metabolic Aspects of Tetracyclines.
Clin.Pharmacol.Ther. 3: 321-339
- (40) Vith, W., Roggenbach, H.-J. (1970).
Klinisch-chemische Untersuchungen über den Einfluß
einer Tetracyclin-Infusionsbehandlung auf Leber-
und Nierenfunktion.
Med.Welt 2 : 76-80
- (41) Yesner, R., Kunkel, P. (1951).
Preliminary Observations on the Effect of
Aureomycin, Terramycin, Tibione, combined Tibione
and Streptomycin, and Chloromycetin on the
Morphology of the Liver in Man.
Yale J.Biol.Med. 23: 299-304

- (42) Zimmerman, H.J., Humoller, F.L. (1953).
Effect of Aureomycin on Choline Oxydase and
Other Enzyme Systems of Rat Liver.
Amer.J.Physiol. 175: 468-472

./.

L e b e n s l a u f

Am 9.8.1954 wurde ich als Tochter der Ehegatten Jerka Ritza geb. Zivkovic und Dr.med. Josef Ritza, Facharzt für Neurologie und Psychiatrie, in Sibenik/Jugoslawien geboren.

Zwischen 1960 und 1968 besuchte ich in Jugoslawien die Schule. Im März 1968 verzogen meine Eltern und ich nach Deutschland. In Weinsberg besuchte ich von 1968 bis 1970 die achte bis zehnte Klasse des Gymnasiums. Im September 1970 zogen wir nach Nürnberg; am Städt. Labenwolf-Gymnasium legte ich am 8.6.1973 das Abitur ab.

Im Oktober 1973 immatrikulierte ich an der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Alexander-Universität in Erlangen und legte im Verlauf des Studiums folgende Prüfungen ab:

Ärztl. Vorprüfung	1975
1.Abschnitt der Ärztl. Prüfung	1976
2." " " "	1978
3." " " "	1980.

Im Verlauf des Praktischen Jahres wurde ich an folgenden Kliniken ausgebildet:

Neurologie und Psychiatrie (Wahlfach) an der Universitäts-Nervenklinik, Prof. H.H. Wieck,
Chirurgie an der Chir.Klinik der Universität Erlangen, Prof. F.P. Gall,
Innere Medizin am Klinikum der Stadt Nürnberg, Prof. H. Kleinfelder.

Seit 1975 bin ich mit Hermann Fischer, Diplomingenieur der Elektrotechnik, verheiratet.

Nürnberg, den 5.5.1980

Helena Fischer

Copy - Center 2000

852 ERLANGEN · Obere Karlstr. 30
Tel. 09131-26197